

## Morphological traits and condition of brown trout *Salmo trutta* from Žumberak and Samobor mountain streams

### Morfološke značajke i kondicija potočne pastrve *Salmo trutta* Žumberačkih i Samoborskih potoka

Marina PIRIA (✉), Ivan ŠPELIĆ, Andrea REZIĆ, Nikica ŠPREM

University of Zagreb Faculty of Agriculture, Department of Fisheries, Apiculture, Wildlife management and spec. Zoology, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb, Croatia

✉ Corresponding author: [mpiria@agr.hr](mailto:mpiria@agr.hr)

Received: 1 March 2019; accepted: 8 December 2019

#### ABSTRACT

Until now brown trout populations, and their morphological distinction in Samobor-Žumberak mountain streams, have not been investigated. The aim of this research was to determine condition factor, length-weight relationship, morphometric and meristic differences between five brown trout populations. In total, 70 specimens of brown trout were analysed. The lowest Fulton condition factor was observed at Kupčina and the highest at the Slapnica stream. Only specimens from Gradna stream demonstrated negative allometric growth. Significant statistical differences between the investigated sites have been identified for head length, mouth width and height, dorsal and pectoral fin height, the number of soft rays in the dorsal fin, and the number of pyloric caeca. The highest similarity between brown trout specimens, based on morphometric and meristic traits, has been observed between the Slapnica and Rudarska Gradna streams. Identified statistically significant morphometric traits suggest genetic variability between analysed specimens and the potential efficacy of stocking with feral brown trout, particularly at the Slapnica and Rudarska Gradna streams. Further research should be focused on the use of molecular analyses to determine the presence of Atlantic lineages (feral) of brown trout, and gene introgression to native wild strains in order to suggest potentially effective conservation measures.

**Keywords:** morphometric, meristic, Salmonids, LWR, condition factor, Croatia

#### SAŽETAK

Populacije potočne pastrve i njihova morfološka različitost u potocima Samoborsko-žumberačkog gorja još nije istraživana. Stoga je cilj ovog rada bio utvrditi kondiciju, dužinsko masene odnose, morfometrijske i merističke značajke između pet populacija potočne pastrve. Analizirano je ukupno 70 primjeraka potočne pastrve. Najniži Fultonov kondicijski faktor zabilježen je na potoku Kupčina, a najviši na potoku Slapnica. Negativan alometrijski rast jedinki zabilježen je jedino na potoku Gradna. Utvrđene su značajne statističke razlike za duljinu glave, širinu i visinu usta, visinu ledne i prsne peraje, broju mekih žbica u lednoj peraji i broju piloričkih nastavaka između lokacija. Najveća sličnost jedinki potočne pastrve na temelju morfometrijskih i merističkih značajki uočena je između populacija potoka Slapnice i Rudarske Gradne. Identificirana statistički značajna morfometrijska svojstva ukazuju na genetsku varijabilnost između analiziranih uzoraka i mogućnost da je vršeno poribljavanje s linijama pastrva iz uzgoja, osobito na potocima Slapnica i Rudarska Gradna.

Daljnja istraživanja trebaju biti usmjerena na molekularne analize kako bi se utvrdila prisutnost Atlantskih linija potočne pastrve (unesenih za potrebe uzgoja) i njihove potencijalne introgresije gena u domaću Dunavsku pastrvu, kako bi se predložile odgovarajuće mjere zaštite.

**Ključne riječi:** morfometrija, meristika, Salmonidi, LWR, factor kondicije, Hrvatska

## DETAILED ABSTRACT

The brown trout *Salmo trutta* Linnaeus, 1758 is widely distributed in Europe and Asia; it is native to the Danube basin and non-native to the Adriatic Basin of Croatia. This species inhabit most of streams at the Žumberak-Samobor Mountain. Brown trout has been introduced and translocated into suitable environments globally as well as in Croatia, mostly due anglers' activity. Recent research suggests that most of anglers' brown trout stocking activities has been done by alien strains of brown trout (Atlantic lineages) which is only strain possible found at salmonid farms (feral). Until now brown trout populations, and their morphological distinction in Samobor-Žumberak mountain streams, have not been investigated. Thus, the aim of this research was to determine condition factor, length-weight relationship and morphometric and meristic differences between five brown trout populations, from Slapnica and Kupčina streams located at Žumberak and Bregana, Gradna and Rudarska Gradna streams located at Samobor Mountain (Figure 1).

Altogether 70 brown trout specimens were captured and analysed during November and December in 2009 year using electrofishing device. At the same time, while fish samplings were conducted, physical and chemical analyses of water were performed (Table 1). In laboratory each specimen was measured for total length (L) and weight (W). Length-weight relationship was calculated by using  $W = a \cdot L^b$  and the condition factor (K) by using the expression  $K = W \cdot L^{-3} \cdot 100$ . In total, 25 morphometric and 9 meristic traits were measured at each specimen (Figure 2).

The differences between morphometric and meristic traits between individuals from different locations were tested by the analysis of variance (ANOVA) and HSD (Tukey) test. To test morphological variation of specimens between investigated sites Principal Component Analysis (PCA) was used. Also, Cluster Analysis, (CA) based on Euclidian distance according to Ward's method has been applied to determine the similarity between individuals.

Together with brown trout, bullhead *Cottus gobio* Linnaeus, 1758 was found at all investigated sites. At three sites alien rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) and native spiralin *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782) were recorded. Only at one site Eurasian minnow *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus 1758) and blageon *Telestes souffia* (Risso, 1827) were observed (Appendix table 1).

Higher concentration of organic matter and phosphates was found only at streams of the Samobor Mountain (Table 1) which suggest higher anthropogenic pressure in this region. Previous researches suggest that chronic exposure of salmonids to high organic pollution, which is usually connected with farming, might be considered as a case of hyperphagia or high condition factor. However, higher differences of condition factor of brown trout individuals at the Samobor streams was not observed. Contrary, the highest condition factor was observed at the Slapnica stream ( $K=1.06$ ) located at Žumberak mountain. The reason for this may be stocking with the feral trout lineages, thus could not be possible to claim with certainty that this value reflects based on environmental factors. Only at Gradna stream negative allometric growth ( $b=2.898$ ) has been determined (Table 2). However, this may indicate that females already spawned because their condition was relatively high ( $K = 1.03$ ), due the spawning period of brown trout from November to February. Statistically significant differences have been identified in head length, mouth width and height, dorsal and pectoral fin height, number of soft rays in dorsal fin and number of pyloric caeca between investigated sites (Table 3, 4 and 5). Previous researches demonstrated high heritability in trout for traits such as head length, number of fin rays and number of pyloric caeca. Also, wider cranium has been found in brown trout of the Atlantic lineages. In our study, the widest interorbital width in individuals from Gradna and Rudarska Gradna streams has been observed (Figure 3). Furthermore, specimens from the Slapnica and Rudarska Gradna possess a longer head length than the rest of specimens from the other locations. PCA and CA analysis show similarity of individuals from Slapnica and Rudarska Gradna even this streams are geographically isolated (Figure 4 and 5).

These results suggest on the possibility that feral, alien, lineage of brown trout are already present in investigated streams and seems that particularly heavy restocking had been done at the Slapnica and Rudarska Gradna streams. Indeed, two anglers associations possess concession and regularly perform restocking with brown trout of those streams, obviously with only available lineage on the market – Atlantic. To identify remaining distribution of native lineages of brown trout, further research should be focused on molecular analyses to determine the presence of Atlantic lineages (feral) and gene introgression to native wild strains in order to suggest potentially effective conservation measures.

## UVOD

Potočna pastrva *Salmo trutta* Linnaeus, 1758 zavičajna je slatkovodna riba s najširom prirodnom rasprostranjenosti na području Palearktike (Bernatchez, 2001). Unesena je u Sjevernu Ameriku, Australiju, Novi Zeland i srednju Afriku (Froese i Pauly, 2019). U Hrvatskoj, potočna pastrva je zavičajna vrsta u rijekama i potocima dunavskog slijeva, a smatra se da je unesena u jadranski slijev (Simonović i sur., 2017a). Njen sistematski status na Balkanskom poluotoku još uvijek nije razriješen s obzirom da u različitim vodotocima dolazi u različitim fenotipovima, formama i morfološkim značajkama (Georgijev, 2003). Sistematizaciju napose otežava činjenica da su pastrve u prošlosti bile interesantne za ribolov i za uzgoj te je u posljednjih 150 godina zabilježen velik broj prijenosa i unosa ove vrste iz jednog u drugi vodotok kao i iz jednog sliva u drugi (Pofuk i sur., 2017). Istraživanja su pokazala da su u dunavskoj regiji zavičajne dunavske linije, a strane atlantske linije pastrva (Simonović i sur., 2017a). Pastrve su od pamtivijeka bile interesantne za uzgoj, prehranu i ribolov. Isprva se uzgajala zavičajna dunavska linija pastrva, koja se nije pokazala adekvatnom za intenzivan uzgoj, stoga su, zbog smanjenja troškova i rizika proizvodnje, uzgajivači preuzeli tehnologiju uzgoja iz zapadne Europe kao i njihove linije pastrva (Taler, 1948; Pofuk i sur., 2017). Međutim, mnogi uzgajivači, kao i javnost, još uvijek smatraju i prezentiraju unesenu atlantsku liniju kao našu prirodnu autohtonu potočnu pastrvu (Kalember, 2011). Međutim, njen status nije reguliran niti jednim zakonskim aktom u Hrvatskoj iako je ta linija izvan teritorija republike Hrvatske prepoznata kao glavni uzrok gubitka nativne genetske raznolikosti roda *Salmo* spp. (Weiss i sur., 2001; Simonović i sur., 2015; Simonović i sur., 2017a).

Za potrebe ribolova, otvorene vode se poribljavaju adekvatnim ribolovnim vrstama. Tako se i salmonidne

vode nadopunjuju novim jedinkama potočne pastrve što se propisuje mjerama gospodarenja za određenu ribolovnu vodu, a ribolovci imaju obvezu temeljem propisanih mjera gospodarenja poribljivati vode nad kojima imaju koncesiju (Narodne novine, 2019).

Prilikom nabave potočne pastrve za potrebe poribljavanja, ribolovci se moraju obratiti uzgajivačima. S obzirom da uzgajivači proizvode samo Atlantske linije pastrva, ribolovci su poribljavali jedinkama koje su bile raspoložive. Na taj način je u otvorene vode dospio strani genetski material (Jadan i sur., 2007). Nedavnim je istraživanjem potvrđeno da je takva unesena pastrva mnogo otpornija od dunavske linije te se smatra invazivnom u slivu rijeke Dunava (Simonović i sur., 2015). Do danas nije poznato u kojoj su mjeri hrvatske otvorene vode poribljavane stranim linijama pastrva kao niti gdje su se zadržale zavičajne linije. Zamijećeno je da se u različitim vodotocima pojedine jedinke potočne pastrve morfološki razlikuju, što je potvrđeno i molekularnim istraživanjima u našim vodama (Jadan i sur., 2007; Škraba i sur., 2017).

Različitost jedinki zamijećena je i na Žumberačko-Samoborskom gorju u više vodotoka koji nisu međusobno povezani, a nema naznaka pritiska ribolovnih aktivnosti kao niti poribljavanja. S obzirom na geografsku izolaciju, populacije iz različitih vodotoka mogle su razviti neku fenotipsku specifičnost jer potočna pastrva posjeduje izrazitu fenotipsku plastičnost (Bernatchez, 2001). Također, postoji mogućnost da su neki vodotoci poribljavani stranim linijama potočne pastrve i kao takvi stvorili hibride (Jadan i sur., 2007). Iako je hibride dunavske i atlantske linije teško moguće vizualno razlikovati (Simonović i sur., 2017a), temeljem nekih morfoloških značajki ipak je moguće utvrditi razlike između pojedinih individua, linija i različitih populacija (Delling, 2002).

S obzirom na raspoloživost hrane u pojedinom vodotoku, jedinke mogu biti lošije ili bolje kondicije te mogu imati pozitivan ili negativan alometrijski rast (Treer i sur., 2008). Na taj način mogu se utvrditi okolišne razlike koje postoje na različitim staništima te uputiti na određene antropogene i druge postojeće pritiske na dotično akvatično stanište.

Do sada, pastrve Žumberačko-Samoborskog gorja nisu bile predmet ekološko-bioloških istraživanja, stoga će se ovim radom utvrditi da li postoje morfološke razlike između pet populacija potočne pastrve, stanje kondicije kao i dužinsko maseni odnosi.

Stoga je cilj istraživanja po prvi puta prikazati: (1) klasične morfometrijske i merističke značajke jedinki potočne pastrve; (2) kondicijsko stanje jedinki; i (3) dužinsko masene odnose potočne pastrve iz različitih vodotoka. Temeljem rezultata raspraviti će se postojanje značajki stranih linija potočne pastrve, pritisak poribljavanja, pogodnost staništa za ovu vrstu u svrhu predlaganja konzervacijskih mjera za očuvanje native genske raznolikosti.

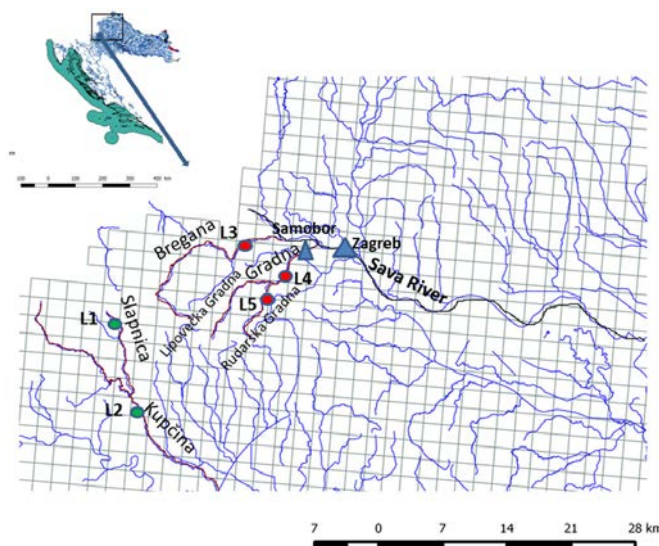
## MATERIALI I METODE

### Područje istraživanja

Žumberačko i Samoborsko gorje smješteno je između rijeka Krke, Save i Kupe, a obuhvaća površinu od 430 km<sup>2</sup>. Najviši vrh predstavlja Sveta Gera (1178 m) smješten u Žumberačkom gorju na granici između Republike Hrvatske i Slovenije. Od 1999. Žumberačko-Samoborsko gorje je zaštićeno i proglašeno parkom prirode. U Hrvatskoj, tekućice Žumberačkog gorja se ulijevaju u rijeku Kupu (Kupčina, Slapnica), a tekućice Samoborskog gorja u rijeku Savu (Bregana, Gradna i Rudarska Gradna).

Za potrebe ovog istraživanja, uzorkovanje se vršilo na pet vodotoka tijekom studenog i prosinca 2009. godine: Slapnica (L1, 45°44'24.3"N 15°29'16.4"E), Kupčina (L2, 45°41'27.6"N 15°29'46.8"E), Bregana (L3, 45°49'16.6"N 15°38'25.4"E), Gradna (L4, 45°48'11.6"N 15°42'52.2"E) i Rudarska Gradna (L5, 45°46'59.9"N 15°41'20.3"E), (Slika 1).

Potok Kupčina izvire u zapadnom dijelu Žumberačke gore u blizini mjesta Sošice. U njega se ulijeva potok Slapnica koji izvire u podnožju glavnog hrpta Žumberačke gore. Dalje Kupčina teče nizvodno i prolazi pored mjesta Krašić gdje se formira u nizinsku rijeku sve do svog ušća sa rijekom Kupom. Potok Gradna izvire u Samoborskom gorju na dva mjesta: jedan joj je izvor kod sela Lipovca (Lipovečka Gradna), a drugi iza sela Rude (Rudarska Gradna). Na zapadnom ulazu u Samobor ta se dva rukavca sastaju i, pod jednim nazivom potok Gradna, združeni teku kroz središnji dio grada prema rijeci Savi. Rijeka Bregana nastaje spajanjem 9 manjih potoka, a predstavlja granični vodotok između Republike Hrvatske i Republike Slovenije i to u dijelu srednjeg toka do ušća u rijeku Savu.



**Figure 1.** Brown trout sampling sites (Streams of Žumberak area = green dots; streams of Samobor area = red dots)

**Slika 1.** Lokacije uzorkovanja potočne pastrve (Potoci Žumberačkog gorja = zelene oznake; potoci Samoborskog gorja = crvene oznake)

### Uzorkovanje riba i analize fizikalno-kemijskih parametara vode

Jedinke su uzorkovane elektroagregatom proizvođača Hans Grassl (Hans Grassl EL 63 II, 220/440 V, 17.8/8.9 A) sa anodom od nehrđajućeg čelika  $\phi 50$  cm i mrežicom mrežnog tega od 10 mm kako bi se ulov limitirao na veće jedinke. Identifikacija ulovljenih riba napravljena je odmah nakon uzorkovanja pomoću ključa Kottelat and Freyhof (2007). Osim potočne pastrve, izmjerene su i



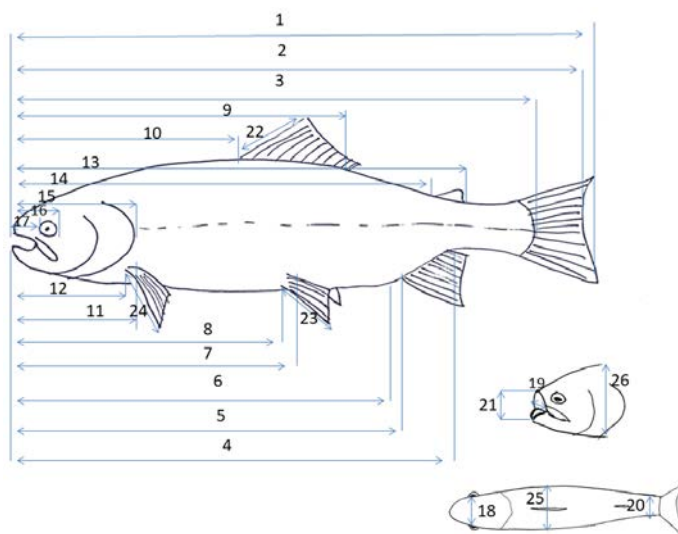
zabilježene i ostale vrste riba koje su ulovljene na istim lokacijama (Dodatak tablica 1). Nakon mjerenja totalne dužine i mase, ostale ribe vraćene su nazad u vodotok, a 10-17 primjeraka ulovljenih jedinki potočne pastreve po vodotoku zadržano za laboratorijske analize. Jedinke potočne pastreve su obilježene, pakirane u polietilensku vrećicu i pohranjene na temperaturu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Usporedno sa uzorkovanjem riba, izmjerena je temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) i provodljivost vode  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{O}_2$   $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{O}_2\%$  i pH vrijednost pomoću Hanna Multi 340i mjernog instrumenta. Za laboratorijska mjerenja Ca tvrdoće ( $\text{CaCO}_3$   $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_3$   $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  i slobodnog  $\text{Cl}^-$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), napunjena je tamna plastična boca, pohranjena u terenskom hladnjaku i voda isti dan analizirana pomoću Hanna HI 83200 multiparametarskog spektrofotometra. Za  $\text{KPK}_{\text{Mn}}$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) korištena je titracijska metoda pomoću  $\text{KMnO}_4$  regensa (Dodatak tablica 2).

### Morfološke značajke riba

Mjereno je 25 morfometrijskih (Slika 2) i 9 merističkih značajki svake analizirane jedinke. Sve izmjere uzete su na lijevoj strani ribljeg tijela. Dužine i visine riba mjerene su ihtiommetrom i pomičnom mjerkom. Masa riba mjerena je električnom digitalnom vagom Tehnica tip: ET1111, preciznosti  $\pm 0.01$  g. Broj branhiospina na prvom škržnom luku i broj piloričkih nastavaka brojan je pomoću lupe. Morfometrijske značajke su mjerene u centimetrima na preciznost 1/10 decimale. Merističke značajke su one koje se broje i izražene su cijelim brojevima. Visina i širina usta mjereni su pri maksimalno otvorenim ustima jedinki.

Rezultati morfometrijskih mjerenja izraženi su u postocima i to na način da su dužine tijela izražene u postocima od totalne dužine (L), dužine glave u postocima dužine glave, visine glave u postocima visine glave, a širine tijela u postocima najveće širine. Pri tome je izračunata i standardna devijacija relativnih mjera dužina, širina i visina u odnosu na odgovarajuće značajke (totalne dužine, dužine glave, najveće širine i visine glave). Rezultati merističkih mjerenja uključuje još i deskriptivnu statistiku (srednju vrijednost, standardnu devijaciju, minimalnu i maksimalnu vrijednost) grupiranu po uzorkovanim lokacijama.



**Figure 2.** Measured morphometric traits (1) total body length; (2) standard body length; (3) fork length; (4) postanal fin distance; (5) preanal fin distance; (6) preanal distance; (7) post-ventral fin distance; (8) pre-ventral fin distance; (9) post dorsal fin distance; (10) predorsal fin distance; (11) postpectoral fin distance; (12) prepectoral fin distance; (13) postadipose fin distance; (14) preadipose fin distance; (15) head length; (16) postorbital length; (17) preorbital length; (18) interorbital space; (19) mouth width; (20) minimum body width; (21) mouth height; (22) dorsal fin height; (23) ventral fin height; (24) pectoral fin height; (25) maximum body width; (26) head width

**Slika 2.** Izmjere morfometrijskih mjera (1) totalna dužina; (2) standardna dužina; (3) dužina do vilice; (4) dužina do kraja podrepne peraje; (5) dužina do početka podrepne peraje; (6) dužina do analnog otvora; (7) dužina do kraja trbušne peraje; (8) dužina do početka trbušne peraje; (9) dužina do kraja leđne peraje; (10) dužina do početka leđne peraje; (11) dužina do kraja prsne peraje; (12) dužina do početka prsne peraje; (13) dužina do kraja masne peraje; (14) dužina do početka masne peraje; (15) dužina glave; (16) dužina do kraja oka; (17) dužina do početka oka; (18) međuočni razmak; (19) širina usta; (20) najmanja širina tijela; (21) visina usta; (22) visina leđne peraje; (23) visina trbušne peraje; (24) visina prsne peraje; (25) najveća širina tijela; (26) visina glave

### Kondicija i dužinsko-maseni odnosi

Fultonov faktor kondicije (K) korišten je za određivanje kondicijskog statusa jedinki svake pojedine lokacije uzorkovanja prema formuli:  $K = W \cdot L^{-3} 100$ , gdje je L totalna dužina (cm) i W (g) masa jedinki. Dužinsko-maseni odnosi (LWR) su računati putem formule  $W = a \cdot L^b$  gdje je L totalna dužina (cm) i W (g) masa jedinki, a i b su konstante (Ricker, 1975). Koeficijent b kreće se oko 3, no odstupanja mogu biti znatna i to nam govori o prirodi rasta riba. Ako je  $b = 3$ , tada govorimo o izometrijskom rastu kod kojega ribe dobivaju podjednako i u masi i u dužini. Pri  $b > 3$  ribe napreduju više u masi i to je pozitivni

alometrijski rast, dok je negativni alometrijski rast kada je  $b < 3$ , a ribe dobivaju više na dužini (Treer i Piria, 2019).

### Statistička analiza

Razlike morfometrijskih i merističkih značajki između jedinki sa različitih lokacija testirane su jednostavnom analizom varijance (ANOVA) i HSD (Tukey) testom. Za analizu sličnosti relativnih morfometrijskih i merističkih značajki jedinki između različitih lokacija korištena je kluster analiza (engl. *Cluster Analysis*, CA) prema Ward-ovoj metodi s Euklidijevom udaljenosti, pri čemu je korišten SAS 9.2 base modul (SAS Institute, 2010).

## REZULTATI

Uz pastrvu, na svim lokacijama zabilježen je peš *Cottus gobio* Linnaeus, 1758. Na lokacijama L2, L3 i L4 uočene su kalifornijska pastrva *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) i dvoprugasta uklija *Alburnoides bipunctatus* (Bloch, 1782). Pijor *Phoxinus phoxinus* (Linnaeus 1758) je zabilježen samo na lokaciji L2, a blistavac *Telestes souffia* (Risso, 1827) na lokaciji L3 (Dodatak tablica 1). Kvaliteta vode na uzorkovanim lokacijama razlikovala se na potocima Žumberačkog od potoka Samoborskog gorja. Na potocima Samoborskog gorja (L3, L4 i L5) uočene su povećane koncentracije organske tvari (KPK od 9,8-14,2 mg·L<sup>-1</sup>) i fosfata (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 2,5 mg·L<sup>-1</sup>), što upućuje na povećan antropogeni pritisak (Dodatak tablica 2).

Ukupno je uhvaćeno i analizirano 70 primjeraka potočne pastrve ukupne mase 4.1 kg. Najmanje jedinki je prikupljeno na lokaciji L1 (10 jedinki), a najviše na lokacijama L3 i L4 (17 jedinki), (Tablica 1).

Zabilježeni faktori kondicije (K) kreću se u rasponu od najnižeg K=0,94 na lokaciji L2 do najvišeg K=1,06 na lokaciji L1. Pozitivnu alometriju imale su jedinke sa lokacije L1 i L5 ( $b=3,156$  i  $3,114$ ), gotovo izometrijski rast jedinke na lokacijama L2 i L3 ( $b=3,002$  i  $3,012$ ), a samo jedinke na lokaciji L4 negativnu alometriju ( $b=2,898$ ), (Tablica 1).

Uočena su manja odstupanja relativnih morfometrijskih značajki za dužinu glave, za dužinu do početka i kraja masne peraje, do kraja leđne i podrepne peraje. Također, uočena je varijabilnost na svim lokacijama za izmjere međuočnog razmaka, širine i visine usta, visine leđne peraje i visine prsne peraje (Tablica 2).

Analizom varijance utvrđeno je da dužina do početka i kraja masne peraje, i dužina do kraja leđne i podrepne peraje nisu statistički signifikantno značajne ( $P>0,05$ ). Međutim, statistički značajno različite su dužina glave ( $F=12,02$ ,  $P<0,01$ ), širina ( $F=6,26$ ,  $P<0,01$ ) i visina usta ( $F=11,73$ ,  $P<0,01$ ), visina leđne ( $F=12,47$ ,  $P<0,01$ ) i prsne peraje ( $F=3,68$ ,  $P<0,01$ ) između lokacija. Rezultat HSD (Tukey) testa za morfometrijske značajke pokazao je da se u tri morfometrijske značajke razlikuju jedinke sa lokacije L2 i L5, te jedinke sa L4 i L5, a u dvije morfometrijske značajke jedinke sa lokacija L1 i L3, L1 i L4. Visina leđne peraje se razlikuje gotovo na svim lokacijama (Tablica 3).

Grafičkim prikazom dužine glave u odnosu na međuočni razmak vidljivo je da su jedinke sa lokacije L4 imale najmanju, a L1 i L5 najveću dužinu glave. Najmanji međuočni razmak imale su jedinke na lokaciji L3 (Slika 3).

**Table 1.** Parameters of length-weight relationships ( $a$ ,  $b$ ) with confidence limits (CL), number of specimens ( $n$ ), total length (L), correlation coefficient ( $r^2$ ) and Fulton condition factor (K) of brown trout at investigated waterbodies

**Tablica 1.** Parametri dužinsko masenih odnosa ( $a$ ,  $b$ ) sa granicama pouzdanosti (CL), broj anaiziranih primjeraka ( $n$ ), totalna dužina (L), korelacijski koeficijent ( $r^2$ ) i Fultonov faktor kondicije (K) za potočnu pastrvu sa istraživanih vodotoka

Waterbody Vodotok	$n$	L range/ raspon (cm)	K	$a$	$b$	95% CL of/ od $b$	$r^2$
Slapnica (L1)	10	8.2-22.9	1.06	0.007	3.156	3.066-3.246	0.993
Kupčina (L2)	14	7.1-32.0	0.94	0.009	3.002	2.941-3.063	0.995
Bregana (L3)	17	9.3-26.7	0.95	0.009	3.012	2.93-3.094	0.989
Gradna (L4)	17	13.5-27.0	1.03	0.014	2.898	2.784-3.012	0.977
Rudarska Gradna (L5)	12	7.2-18.8	1.04	0.008	3.114	3.003-3.225	0.987

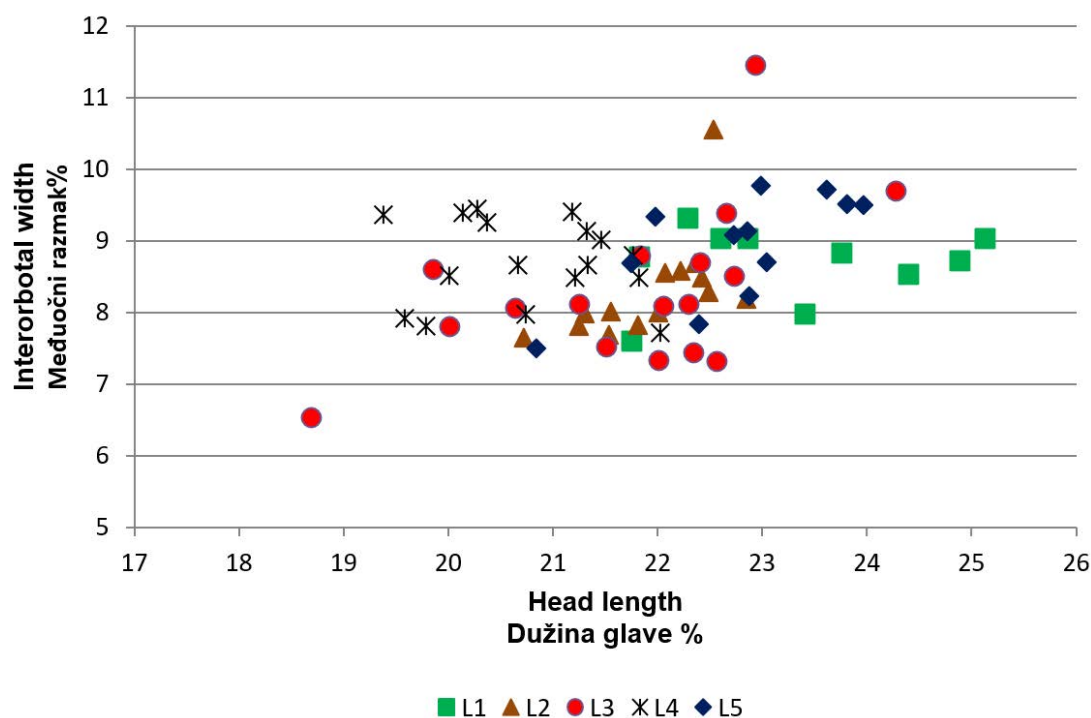
**Table 2.** Morphometric characters of the brown trout from the five investigated sites (mean±standard deviation ( $\bar{x} \pm sd$ ))**Tablica 2.** Morfometrijske vrijednosti potočne pastrve na pet istraživanih lokacija (prosjeak±standardna devijacija ( $\bar{x} \pm sd$ ))

Variable	$\frac{L1}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L2}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L3}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L4}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L5}{\bar{x} \pm sd}$
In % of total length In % totalne dužine					
Standard length Standardna dužina	85.33 ±1.03	85.75 ±1.66	83.36 ±2.57	85.46 ±2.31	84.13 ±1.34
Fork length Do vilice	95.50 ±1.09	94.27 ±1.31	94.84 ±2.48	94.91 ±1.13	94.68 ±1.20
Postanal fin distance Do kraja podrepne peraje	70.97 ±1.55	69.53 ±1.76	69.42 ±1.75	70.15 ±2.05	69.95 ±1.57
Preanal fin distance Do početka podrepne peraje	63.53 ±2.40	63.31 ±1.26	62.89 ±1.60	63.37 ±2.08	63.11 ±1.71
Preanal distance Do analnog otvora	60.60 ±1.47	59.82 ±1.22	59.52 ±1.55	61.57 ±9.57	59.23 ±1.81
Posventral fin distance Do kraja trbušne peraje	47.91 ±1.16	47.44 ±0.97	47.16 ±1.52	47.08 ±1.37	46.73 ±1.13
Preventral fin distance Do početka trbušne peraje	45.72 ±1.23	45.17 ±1.01	44.92 ±1.51	44.65 ±2.80	44.50 ±1.07
Post dorsal fin distance Do kraja leđne peraje	50.75 ±0.83	48.02 ±5.26	49.17 ±2.06	50.87 ±6.20	49.86 ±1.00
Do početka leđne peraje Pre dorsal fin distance	38.72 ±1.24	37.83 ±1.54	37.90 ±1.32	37.86 ±1.63	38.34 ±1.75
Postpectoral fin distance Do kraja prsne peraje	22.92 ±1.37	22.65 ±0.61	22.87 ±1.60	21.70 ±1.18	22.87 ±0.77
Prepectoral fin distance Do početka prsne peraje	19.89 ±1.27	19.48 ±0.50	19.89 ±1.36	18.89 ±0.95	19.67 ±0.74
Postadipose fin distance Do kraja masne peraje	71.73 ±0.88	70.67 ±0.83	70.50 ±1.60	70.78 ±1.81	70.72 ±1.20
Preadipose fin distance Do početka masne peraje	69.36 ±1.20	68.28 ±1.36	68.23 ±1.65	69.28 ±2.52	68.04 ±0.79
Head length Duzina glave	23.29 ±1.23	21.94 ±0.60	21.77 ±1.35	20.77 ±0.82	22.73 ±0.90
In % of head length U % duzine glave					
Postorbital length Do kraja oka	47.97 ±2.54	45.59 ±2.58	46.98 ±3.78	44.91 ±2.74	48.34 ±3.60
Preorbital length Do početka oka	22.42 ±3.08	22.81 ±3.46	22.23 ±2.73	22.00 ±2.81	22.22 ±3.95

Table 2. Continued

Tablica 2. Nastavak

Variable	$\frac{L1}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L2}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L3}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L4}{\bar{x} \pm sd}$	$\frac{L5}{\bar{x} \pm sd}$
In % of maximum width U % najveće širine					
Eye diameter Međuočni razmak	74.76 ±11.56	81.57 ±9.42	77.16 ±9.23	78.45 ±8.05	73.02 ±7.20
Mouth width Širina usta	82.65 ±11.42	92.79 ±15.13	80.39 ±6.20	82.53 ±12.98	71.18 ±7.05
Minimum width Najmanja širina	28.50 ±3.86	28.78 ±3.79	28.84 ±4.90	31.50 ±6.48	30.64 ±4.64
In % of head height U % visine glave					
Mouth height Visina usta	94.42 ±5.90	100.98 ±7.40	105.10 ±10.46	94.73 ±9.56	84.30 ±6.73
Dorsal fin height Visina leđne peraje	71.55 ±8.29	87.56 ±7.87	84.24 ±8.61	91.54 ±5.67	77.59 ±9.64
Ventral fin height Visina trbušne peraje	68.10 ±5.51	77.17 ±5.30	78.00 ±7.50	73.63 ±11.13	65.84 ±6.95
Pectoral fin height Visina prsne peraje	91.42 ±7.62	102.23 ±7.42	103.18 ±10.48	98.79 ±11.18	93.11 ±10.72



**Figure 3.** Interorbital width plotted on head length for analysed specimens at five investigated sites (data presented in % of total body length)

**Slika 3.** Međuočni razmak u odnosu na dužinu glave analiziranih jedinki na svim lokacijama (podaci prikazani % od totalne duljine tijela)



Razlike u broj tvrdih žbica u prsnoj i trbušnoj peraji na svim lokacijama nisu zabilježene. Međutim, zabilježena je varijabilnost broja mekih žbica u dorzalnoj peraji na lokaciji L4 te varijabilnost broja piloričkih nastavaka između svih lokacija. Najveći raspon broja piloričkih nastavaka ( $44 \pm 14,77$ ) zabilježen je na lokaciji L4. Prosječan broj branhiospina na prvom škržnom luku na svim lokacijama kretao se između 15 i 16, s najvećom varijabilnošću zabilježenom na lokaciji L5 ( $15 \pm 4,16$ ), (Tablica 4.). Jednostavnom analizom varijance razlika merističkih značajki između lokacija potvrdila je statistički

značajne razlike u broju dorzalnih žbica ledne peraje i broju piloričkih nastavaka ( $P < 0,05$ ) dok ostale merističke značajke nisu bile statistički značajne ( $P > 0,05$ ).

Tukey HSD testom broja piloričkih nastavaka i broja mekih žbica u dorzalnoj peraji je utvrđena je razlika između jedinki na lokacijama L4 i L5 (Tablica 3).

CA analiza morfometrijskih i merističkih značajki između lokacija upućuje na sličnost između L2, L3 i L4 te L1 i L5 (Slika 4 A i B). Jedinke na lokacijama L1 i L5 su morfološki najslbližije, zatim jedinke na lokacijama L2 i L3

**Table 3.** Tukey's HSD test of morphometric and meristic characters between five brown trout populations from investigates sites

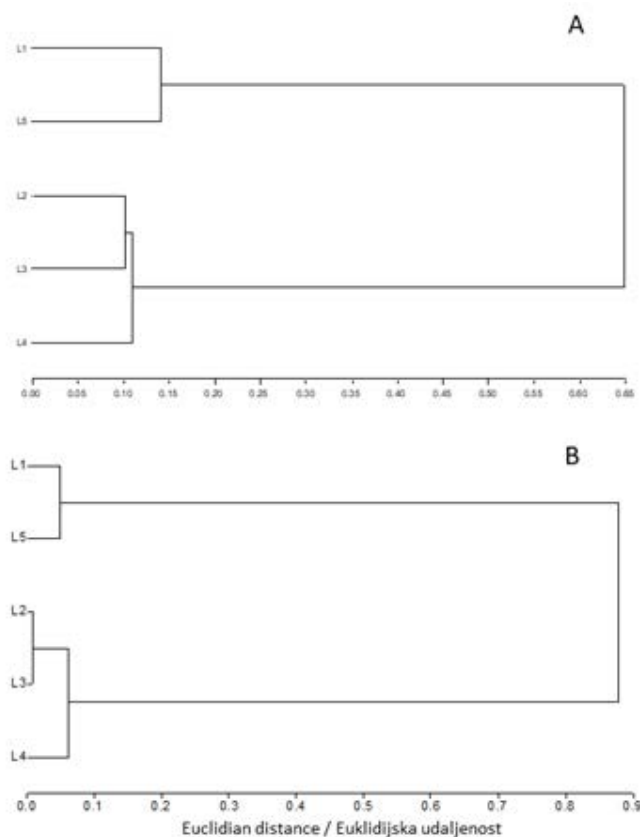
**Tablica 3.** HSD (Tukey) test morfometrijskih i merističkih značajki pet populacija potočne pastirve između istraživanih lokacija

Lokacija Sampling site	L2	L3	L4	L5
L1	Visina ledne peraje/ Dorsal fin height $P < 0.001$	Visina ledne peraje/ Dorsal fin height $P < 0.01$ Visina prsne peraje/ Pectoral fin height $P < 0.05$	Duzina glave/ Head length $P < 0.001$ Visina ledne peraje/ Dorsal fin height $P < 0.001$	
L2		Širina usta/ Mouth width $P < 0.05$		Širina usta/ Mouth width $P < 0.001$ Visina usta/ Mouth height $P < 0.001$ Visina ledne peraje/ Dorsal fin height $P < 0.05$
L3				Visina usta/ Mouth height $P < 0.001$
L4				Dužina glave/ Head length $P < 0.001$ Visina ledne peraje/ Dorsal fin height $P < 0.01$ Broj piloričkih nastavaka/ Number of piloric caeca $P < 0.05$ Broj mekih žbica u dorzalnoj peraji/ Soft rays in dorsal fin $P < 0.05$

**Table 4.** Meristic characters (n, number) of fin rays, first left gill arch and piloric caeca from the five investigated sites ( $\bar{x} \pm sd$  = average  $\pm$  standard deviation, min=minimum; max =maximum)**Tablica 4.** Merističke vrijednosti (n, broj) žbica u perajama, prvog lijevog škrznog luka i piloričkih nastavaka na pet istraživanih lokacija ( $\bar{x} \pm sd$  = prosjek  $\pm$  standardna devijacija, min=minimum; max =maksimum)

Variable	L1			L2			L3			L4			L5		
	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max	$\bar{x} \pm sd$	min	max
Soft rays in dorsal fin Dorzalne meke žbice	9 $\pm$ 0.32	9	10	9 $\pm$ 0.51	9	10	9 $\pm$ 0.47	9	10	10 $\pm$ 0.97	9	12	9 $\pm$ 0.78	8	10
Spines in dorsal fin Dorzalne tvrde žbice	3 $\pm$ 0.00	3	3	2 $\pm$ 0.27	2	3	3 $\pm$ 0.00	3	3	3 $\pm$ 0.00	3	3	2 $\pm$ 0.29	2	3
Soft rays in pectoral fin Pektoralne meke žbice	11 $\pm$ 0.32	11	12	11 $\pm$ 0.85	9	12	11 $\pm$ 0.72	10	13	11 $\pm$ 0.78	11	13	11 $\pm$ 0.75	10	12
Spines in pectoral fin Pektoralne tvrde žbice	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.0	1	1	1 $\pm$ 0.0	1	1
Soft rays in ventral fin Ventralne meke žbice	7 $\pm$ 0.32	7	8	7 $\pm$ 0.27	7	8	7 $\pm$ 0.24	7	8	8 $\pm$ 0.33	8	9	8 $\pm$ 0.00	8	8
Spines in ventral fin Ventralne tvrde žbice	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.00	1	1	1 $\pm$ 0.00	1	1
Length of first gill arch Duzina prvog škrznog luka (cm)	2.70 $\pm$ 0.54	1.70	3.40	2.52 $\pm$ 1.14	1.10	5.50	2.35 $\pm$ 0.73	1.40	4.20	2.62 $\pm$ 0.63	2.62	3.60	2.13 $\pm$ 0.57	1.10	2.90
Number of gill rakers Broj branhiospina	16 $\pm$ 2.69	14	22	16 $\pm$ 2.07	12	19	15 $\pm$ 1.93	13	19	16 $\pm$ 3.00	10	20	15 $\pm$ 4.16	9	23
Number of piloric caeca Broj piloričkih nastavaka	34 $\pm$ 5.25	24	42	41 $\pm$ 13.93	10	61	41 $\pm$ 9.61	30	67	44 $\pm$ 14.77	44	4.77	31 $\pm$ 10.81	15	53

koje se preklapaju u određenim morfološkim izmjerama sa jedinkama sa lokacije L4. Udaljenost unutar grupa ( $\approx 0.1$ ) znatno je manja nego između grupa (0,65 morfometrijske i 0,9 merističke značajke).



**Figure 4.** Plot of CA analysis according to Euclidean distance of relative (A) morphometric and, (B) meristic traits

**Slika 4.** Grafički prikaz CA analize prema Euklidijskoj udaljenosti relativnih (A) morfometrijskih i, (B) merističkih mjera

## RASPRAVA

Ihtiofaunu gornjih tokova tekućica Dunavskog sliva karakterizira zajednica potočne pastrve, peša (Simonović i sur., 2017b) i pijora (Vucić i sur., 2018). Jedino preostalo stanište blistavca u Hrvatskoj je rijeka Bregana (Piria i sur., 2019), dok je dvoprugasta uklija tipična vrsta srednjeg toka (područje mreine), ali se može pronaći i u manjim potocima koji su ušćem povezani sa srednjim tokom većeg vodotoka (Treer i sur., 2006). Osim navedenih autohtonih vrsta riba, na istraživanom području uz pastrvu obitava i unesena kalifornijska pastrva koja je pronađena na ukupno tri od pet proučavanih lokacija, odnosno ta vrsta je unesena u vodotoke Žumberačkog i Samoborskog gorja te potočnoj

pastrvi može biti izravni konkurent za staništem i hranom (Piria i sur., 2018).

Povećana urbanizacija moguć je razlog povećane koncentracije organske tvari pronađene na vodotocima Samoborskog gorja (Kuzmanović i sur., 2011), što se može odraziti na izmijenjene karakteristike okoliša (različitu raspoloživost hrane) gdje primjerice potočna pastrva mora razviti nove strategije za preživljavanje (Cobo i sur., 2013). Kronična izloženost organskom zagađenju može izazvati promjene koje su inače normalno povezane s uzgojem, kao što je hiperfagija ili povećana kondicija (Cobo i sur., 2013). Međutim, na jedinkama potočne pastrve iz potoka Samoborskog gorja nije zabilježeno veće odstupanje kondicijskog faktora. Naprotiv, najveći kondicijski faktor i najveći prirast u masu zabilježen je na jedinkama sa L1 lokacije Žumberačkog gorja. Razlog tomu može biti pojačano poribljavanje uzgojnim linijama potočne pastrve pa nije moguće sa sigurnošću tvrditi da se ta vrijednost istinski odražava temeljem okolišnih faktora. Zanimljivo je da jedinke iz potoka Gradna ukazuju na negativnu alometriju LWR ( $b=2,898$ ), međutim, to može ukazati i na podatak da su se ženke izmrijestile s obzirom da im je kondicija relativno visoka ( $K=1,03$ ), a u našim vodama mrijest pastrva traje od studenog do siječnja (Mrakovčić i sur., 2006). Nadalje, na LWR kod riba utječu brojni čimbenici, uključujući stanište, smještaj vodotoka, godišnje doba, zrelost gonada, spol, prehrana i punoća želuca, zdravlje i način skladištenja uzoraka (Tesch, 1971), koji nisu razmatrani u ovoj studiji. Ipak, usporedba LWR vrijednosti ovog istraživanja sa drugim lokacijama u Hrvatskoj (Prpa i sur., 2007) i zemljama Europe (Oscor i sur., 2005; Nowak i sur., 2009), upućuje da je potočna pastrva iz proučavanih vodotoka u povoljnim stanišnim uvjetima te da je raspoloživost hrane zadovoljavajuća.

Varijabilnost morfometrijskih mjera mogu biti uzrokovane rastom i starenjem (Cardin, 2000) međutim pretvorbom prosječnih apsolutnih veličina u relativne mjere (postotne odnose), taj efekt se gubi (Treer, 1993). Morfometrijske mjere pokazuju vrlo niski heritabilitet ili nasljednost (vrijednost bliža nuli ukazuje na niski heritabilitet, a vrijednost bliža broju jedan ukazuje na visok

heritabilitet) pa je teško uočiti da li su eventualne razlike nastale genskom različitosti ili ekološkom varijantom fenotipa, posebice ako se radi o vrstama iz roda *Salmo* zbog njihove izrazite fenotipske plastičnosti (Treer, 1993). Ipak, pomoću klasične morfometrije moguće je utvrditi razlike između populacija iz različitih ekoloških uvjeta (Treer i sur., 1995), pa su tako vanjskom morfologijom tijela uspješno razdvojene populacije potočne pastrve zapadnog Balkana iz različitih slivova kao i unesene ribnjačke forme porijeklom iz Atlantskog sliva (Simonović i sur., 2007).

U ovom istraživanju dobivena je statistički značajna razlika morfometrijskog mjerenja za dužinu glave između L4 i L1 te L5 i L4, što može uputiti i na određene genske različitosti jer ta značajka kod pastrva pokazuje visok heritabilitet, primjerice kod kalifornijske pastrve heritabilitet iznosi 0,76 (Tave, 1986). Osim toga, vrlo je vjerojatno da su istraživani potoci poribljavani sa unesenom ribnjačkom Atlantskom formom potočne pastrve (Zanella i Mrakovčić, 2015). Temeljem dužine glave i međuočnog razmaka dokazano je da različite vrste iz roda *Salmo* posjeduju određene specifičnosti. Tako *S. marmoratus* ima uži međuočni razmak, a time i kranium lubanje od Atlantskog tipa potočne pastrve (Delling, 2002). U našem istraživanju najširi međuočni razmak imale su jedinke s lokacija L4 i L5. Nadalje, jedinke s lokacije L1 i L5 imaju proporcionalno dužu glavu od jedinki ostalih lokacija.

Merističke mjere imaju daleko viši heritabilitet pa su stoga znatno pouzdanije u definiranju razlika između pojedinih vrsta i varijeteta (Treer, 1993). Tako je heritabilitet za broj žbica u dorzalnoj peraji kalifornijske pastrve vrlo visok ( $h^2=0,9$ ), te visok za broj piloričkih nastavaka ( $h^2=0,65$ ), (Tave, 1986). U ovom istraživanju dobivene su statički značajne razlike u broju žbica dorzalne peraje i broju piloričkih nastavaka između jedinki sa lokacija L4 i L5 što također ukazuje na moguću gensku razliku između te dvije populacije potočne pastrve kao i na mogućnost da su vode poribljavane različitim linijama riba. Poznato je da potocima Slapnica i Kupčina gospodari ribolovno društvo ŠRD Jastrebarsko (ŠRD Jastrebarsko,

2020), a Breganom, Gradnom i Rudarskom Gradnom ŠRD Samobor (ŠRD Samobor, 2020) te imaju obvezu poribljavanja potočnom pastrvom. Iako je u gospodarskim osnovama navedeno da se poribljavanje treba vršiti autohtonim genetskim materijalom (Zanella i Mrakovčić, 2015), očito je da nemogućnost nabavke takvog materijala uzrokuje poribljavanje jedinkama koje su raspoložive na tržištu. Prethodno prikazane rezultate potvrđuje i CA analiza gdje lokacija L2 ne pokazuje veliku razliku prema geografski udaljenim lokacijama L3 i L4, dok L1 pokazuje najviše sličnosti s L5 u morfometrijskim i merističkim mjerama (Slika 4). Ipak, potrebno je napomenuti da je ovo istraživanje provedeno na relativno malom broju jedinki, što ujedno predstavlja nedostatak ovog istraživanja. Međutim, dobiveni rezultati jasno ukazuju na problem poribljavanja stranim linijama potočne pastrve što posljedično može uzrokovati znatne štete za autohtoni salmonidni stok.

## ZAKLJUČCI

S obzirom na iznesene činjenice evidentno je da je potrebno identificirati lokacije na kojim su još uvijek rasprostranjene preostale jedinke izvornih linija Dunavske pastrve. Stoga bi buduća istraživanja trebala biti usmjerena na molekularne analize identifikacije Atlantskog genetskog materijala kao i stupanj introgresije gena, odnosno hibridizacije izvornih Dunavskih linija potočne pastrve. Tek temeljem budućih saznanja moći će se odrediti adekvatne konzervacijske mjere za zaštitu izvornog genetskog materijala.

## ZAHVALA

Ovaj rad je izrađen u sklopu HRZZ projekta pod naslovom "Klimatske promjene i invazivne vrste – utvrđivanje utjecaja na bioraznolost nativnih slatkovodnih rakova i pastrva i njihova konzervacija – CLINEinBIOTA" (IP-06-2016) i bilateralnog projekta Hrvatska-Srbija (2019/20) "Stanje raznolikosti potočne pastrve u vodama dunavskog sliva i ribarsko-konzervacijske implikacije". Rad je podržan i EIFAAC/FAO nefinanciranim projektom Aquatic Invasive Species in Europe. Zahvaljujemo se našim vrijednim bivšim studentima Samuelu Buničiću,

Ani Drašković i Martinu Reljanoviću, a posebno Hrvoju Novoselu na predanom radu na terenu, u laboratoriju i kvalitetnoj analizi podataka.

## POPIS LITERATURE

- Bernatchez, L. (2001) The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, 55 (2), 351–379. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb01300.x>
- Cardin, X. S. (2000) Advances in morphometric identification of fishery stocks. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 91–112. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008939104413>
- Cobo, F., Sánchez-Hernández, J., Vieira-Lanero, R., Servia, M.J. (2013) Organic pollution induces domestication-like characteristics in feral populations of brown trout (*Salmo trutta*). *Hydrobiologia* 705, 119–134. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1386-4>
- Delling, B. (2002) Morphological distinction of the marble trout, *Salmo marmoratus*, in comparison to marbled *Salmo trutta* from River Otra, Norway. *Cybiurn*, 26 (4), 283–300. [Online] Available at: <http://sfi-cybiurn.fr/fr/morphological-distinction-marble-trout-salmo-marmoratus-comparison-marbled-salmo-trutta-river-otra> [Accessed 1 March 2019].
- Freese, R., Pauly, D. (2019) FishBase, Sea trout *Salmo trutta* Linnaeus, 1758. World Wide Web electronic publication. [Online] Available at: [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org) version (10/2018) [Accessed 18 January 2019].
- Georgijev, B. V. (2003) On the origin of the Balkan peninsula Salmonids. *Ribarstvo*, 61 (4), 147–174. [Online] Available at: <https://hrcak.srce.hr/4702> [Accessed 15 March 2019].
- Jadan, M., Čož-Rakovac, R., Tupač Popović, N., Strunjak-Perović, I. (2007) Presence of unexpected phylogenetic lineages of brown trout *Salmo trutta* L. in Gacka River, Croatia. *Aquaculture Research*, 38, 1682–1685. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01832.x>
- Kalamber, Đ. (2011) Slatkovodno ribarstvo na tlu Republike Hrvatske od 1945. do 2007. godine. *Stočarstvo* 65 (2), 147–164. [Online] Available at: <https://hrcak.srce.hr/73899?lang=en> [Accessed 15 March 2019]
- Kottelat, M., Freyhof, J. (2007) Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany, 646 pp.
- Kuzmanović, M., Strmić Palinkaš, S., Palinkaš, L., Hrenović, J., Kampić, Š., Tepeš, P., Obhoda, J. (2011) The influence of historic mining and urbanization on geochemical and bacteriological characteristics of the Gradna stream, Samoborska gora mts., Croatia. *Proceedings, 2nd International workshop on the UNESCO-IGCP project: "Anthropogenic effects on the human environment in the Neogene basins in the SE Europe"* 6-7th October 2011, Zagreb – Croatia, 7-14. [Online] Available at: [https://e-lib.ugd.edu.mk/resursi/unesco\\_w/Proceeding%20book%20II%20Workshop2.pdf#page=12](https://e-lib.ugd.edu.mk/resursi/unesco_w/Proceeding%20book%20II%20Workshop2.pdf#page=12) [Accessed 20 March 2019]
- Mrakovčić, M., Brigić, A., Buj, I., Čaleta, M., Mustafić, P., Zanella, D. (2006) Red book of freshwater fish of Croatia. Republic of Croatia, Zagreb: Ministry of Culture, State Institute for Nature Protection. [Online] Available at: [http://www.haop.hr/sites/default/files/uploads/dokumenti/03\\_prirodne/crvene\\_knjige\\_popisi/Crvena\\_knjiga\\_slatkovodnih\\_riba-web.pdf](http://www.haop.hr/sites/default/files/uploads/dokumenti/03_prirodne/crvene_knjige_popisi/Crvena_knjiga_slatkovodnih_riba-web.pdf) [Accessed 20 March 2019]
- Narodne novine (2019) Zakon o slatkovodnom ribarstvu. Zagreb: Narodne novine (NN 63/2019). [Online] Available at: [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019\\_06\\_63\\_1232.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2019_06_63_1232.html) [Accessed 14 July 2019]
- Nowak, M., Popek, W., Jagusiak, W., Deptula, S., Popek, J., Tatoj, K., Kleczar, K., Epler, P. (2009) Weight-length relationships for three fishes (*Leuciscus leuciscus*, *Phoxinus phoxinus*, *Salmo trutta*) from the Strwiąż river. *Archives of Polish Fisheries*, 17, 313–316. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10086-009-0023-y>
- Osczo, J., Campos, F., Escala, M.C. (2005) Weight-length relationship of some fish species of Iberian peninsula. *Journal of Applied Ichthyology*, 21, 73–74. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2004.00587.x>
- Piria, M., Simonović, P., Nikolić, V., Ristovska, M., Apostolou, A., Adrović, A., Povž, M., Zanella, D., Mrdak, D., Milošević, D., Vardakas, L., Koutsikos, N., Kalogianni, E., Gregori, A., Kostov, V., Škrijelj, R., Korro, K., Bakiu, R., Tarkan, A.S., Joy, M.K. (2018) Alien freshwater fish species in the Balkans – vectors and pathways of introduction. *Fish and fisheries*, 19, 138–169. DOI: <https://doi.org/10.1111/faf.12242>
- Piria, M., Simonović, P., Zanella, D., Čaleta, M., Šprem, N., Paunović, M., Tomljanović, T., Gavrilović, A., Pecina, M., Špelić, I., Matulić, D., Rezić, A., Aničić, I., Safner, R., Treer, T. (2019) Long-term analysis of fish assemblage structure in the middle section of the Sava River – The impact of pollution, flood protection and dam construction. *Science of the Total Environment*, 651, 143–153. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.149>
- Pofuk, M., Zanella, D., Piria, M. (2017) An overview of the translocated native and non-native fish species in Croatia: pathways, impacts and management. *Management of Biological Invasions*, 8, 425–435. DOI: <https://doi.org/10.3391/mbi.2017.8.3.16>
- Prpa, Z., Treer, T., Piria, M., Šprem, N. (2007) The condition of fish from some freshwaters of Croatia. *Ribarstvo*, 65 (1), 25–46. [Online] Available at: [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id\\_clanak=13451](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak=13451) [Accessed 20 March 2019]
- Ricker, W. E. (1975) Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 191, 382 pp.
- SAS Institute (2010) The SAS system for Windows. SAS Software (Release 9.2), Modules: BASE, STAT, IML, Cary, NC: SAS Institute.
- Simonović, P., Marić, S., Nikolić, V. (2007) Trout *Salmo* spp. complex in Serbia and adjacent regions of the western Balkans: reconstruction of evolutionary history from external morphology. *Journal of Fish Biology* 70 (Supplement C), 359–380. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01516.x>
- Simonović, P., Piria, M., Zuliani, T., Ilić, M., Marinković, N., Kračun-Kolarević, M., Paunović, M. (2017b) Characterization of sections of the Sava River based on fish community structure. *Science of the Total Environment*, 574, 264–271. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.072>
- Simonović, P., Tošić, A., Škraba, D., Nikolić, V., Piria, M., Tomljanović, T., Šprem, N., Mrdak, D., Milošević, D., Bećiraj, A., Dekić, R., Povž, M. (2017a) Diversity of brown trout *Salmo* cf. *trutta* (L.) in the River Danube basin of Western Balkans. *Journal of Ichthyology*, 57 (4), 603–616. DOI: <https://dx.doi.org/10.7868/S0042875217040166>
- Simonović, P., Vidović, Z., Tošić, A., Škraba, D., Čanak-Atlagić, J., Nikolić, V. (2015) Risks to stocks of native trout of the genus *Salmo* (Actinopterygii: Salmoniformes: Salmonidae) of Serbia and management for their recovery. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 45, (2), 161–173. DOI: <https://dx.doi.org/10.3750/AIP2015.45.2.06>



- Škraba, D., Bećiraj, A., Šarić, I., Ićanović, I., Džaferović, A., Piria, M., Dekić, R., Tošić, A., Nikolić, V., Simonović, P. (2017) Haplotype diversity of brown trout (*Salmo trutta* L.) populations from Una River drainage area in Bosnia and Herzegovina: Implications for conservation and fishery management. *Acta Zoologica Bulgarica*, 69 (1), 25-30. [Online] Available at: [https://bib.irb.hr/datoteka/876953.SKRABA\\_et\\_al\\_Salmo\\_trutta\\_Bosnia\\_Herzegovina.pdf](https://bib.irb.hr/datoteka/876953.SKRABA_et_al_Salmo_trutta_Bosnia_Herzegovina.pdf) [Accessed 20 March 2019]
- ŠRD Jastrebarsko (2020) Športsko ribolovno društvo Jastrebarsko. [Online] Available at: <http://www.srd-jastrebarsko.hr/portal/> [Accessed 4 May 2020]
- ŠRD Samobor (2020) Športsko ribolovno društvo Samobor. [Online] Available at: <http://www.srd-samobor.hr/onama.php> [Accessed 4 May 2020]
- Taler, Z. (1948) Otkriće na Gackoj i njegovo značenje za uzgoj pastrva. *Ribarstvo Jugoslavije*, 3 (1-2), 8-11. [Online] Available at: [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id\\_clanak\\_jezik=180475](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=180475) [Accessed 20 March 2019]
- Tave, D. (1986) Genetics for Fish Hatchery Managers. Westport, Connecticut, USA: AVI Publishing Co., Inc.
- Tesch, F. W. (1971) Age and growth. In: W. E. Ricker, ed. *Methods for assessment of fish production in fresh waters*. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, pp. 98-103.
- Treer, T. (1993) Upotrebljivost merističkih i morfometrijskih svojstava u razlikovanju ribljih populacija. *Ribarstvo*, 48 (1), 13-26. [Online] Available at: [https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id\\_clanak\\_jezik=104931](https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=104931) [Accessed 20 March 2019]
- Treer, T., Piria, M. (2019) Osnove primijenjene ihtiologije. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.
- Treer, T., Piria, M., Aničić, I., Safner, R., Tomljanović, T. (2006) Diet and growth of spirin, *Alburnoides bipunctatus* in the barbel zone of the Sava River. *Folia Zoologica*, 55, 97-106. [Online] Available at: [https://www.ivb.cz/wp-content/uploads/55\\_97-106.pdf](https://www.ivb.cz/wp-content/uploads/55_97-106.pdf) [Accessed 20 March 2019]
- Treer, T., Safner, R., Aničić, I., Lovrinov, M. (1995) *Ribarstvo*. Zagreb: Nakladni zavod globus.
- Treer, T., Šprem, N., Torcu-Koc, H., Sun, Y., Piria, M. (2008) Length-weight relationships of freshwater fishes of Croatia. *Journal of Applied Ichthyology*, 24, 626-628. DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01084.x>
- Vucić, M., Jelić, D., Žutinić, P., Grandjean, F., Jelić, M. (2018) Distribution of Eurasian minnows (*Phoxinus: Cypriniformes*) in the Western Balkans. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, 419, 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1051/kmae/2017051>
- Weiss, S., Schlötterer, C., Waidbacher, H., Jungwirth, M. (2001) Haplotype (mtDNA) diversity of brown trout *Salmo trutta* in tributaries of the Austrian Danube: massive introgression of Atlantic basin fish – by man or nature? *Molecular Ecology*, 10, 1241-1246. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2001.01261.x>
- Zanella, D., Mrakovčić, M. (2015) ŠRD Jastrebarsko, Revizija ribolovno gospodarske osnove. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovni-matematički fakultet. [Online] Available at: <http://www.srd-jastrebarsko.hr/portal/images/GO.pdf> [Accessed 1 March 2019]

#### Appendix table 1. List of all fish species captured at five streams of Žumberak-Samobor Mountains

#### Dodatak tablica 1. Popis svih vrsta riba uzorkovanih na pet potoka Žumberačkog i Samoborskog gorja

Species Vrsta	Location Lokacija
Brown trout <i>Salmo trutta</i> Linnaeus, 1758 Potočna pastrva	L1, L2, L3, L4, L5
Rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> (Walbaum, 1792) Kalifornijska pastrva	L2, L3, L4
Bullhead <i>Cottus gobio</i> Linnaeus, 1758 Peš	L1, L2, L3, L4, L5
Spirin <i>Alburnoides bipunctatus</i> (Bloch, 1782) Dvoprugasta uklija	L2, L3, L4
Eurasian minnow <i>Phoxinus phoxinus</i> (Linnaeus 1758) Pijor	L2
Blageon <i>Telestes souffia</i> (Risso, 1827) Blistavac	L3

**Appendix table 2.** Water quality parameters at five investigated locations**Dodatak tablica 2.** Parametari kvalitete vode na pet uzorkovanih lokacija

Parameters Parametri	Lokacija uzorkovanja Site of investigation				
	Slapnica L1	Kupčina L2	Bregana L3	Gradna L4	Rudarska Gradna L5
Date Datum	25. 11. 2009.	25. 11. 2009.	2. 12. 2009.	2. 12. 2009.	2. 12. 2009.
Sampling hour Sat uzorkovanja	10:30	12:00	10:00	11:20	13:00
Temp. °C	8.5	7.6	7.6	8.5	8.3
Conductivity Provodljivost $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	528	534	474	572	663
O <sub>2</sub> mg·L <sup>-1</sup>	11.2	11.5	11.4	11.1	11.3
O <sub>2</sub> %	93.3	96.7	97.1	97.0	97.5
COD <sub>Mn</sub> KPK mg·L <sup>-1</sup>	1.7	5.5	12.2	9.8	14.2
pH	8.29	8.3	8.5	8.53	8.46
NH <sub>3</sub> mg·L <sup>-1</sup>	0.22	0.27	0.17	0.06	0.06
NO <sub>2</sub> - mg·L <sup>-1</sup>	0.07	0.07	0.13	0.07	0.16
NO <sub>3</sub> - mg·L <sup>-1</sup>	0.04	1.32	0	0	0.31
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> mg·L <sup>-1</sup>	0.61	0.65	2.5	2.5	2.5
Ca hardness Ca tvrdoća CaCO <sub>3</sub> mg·L <sup>-1</sup>	2.7	2.7	0.48	0.08	1.79
Free Slobodni Cl	0.13	0.17	0.22	0.12	0.17